

OX40リガンド発現組換えアデノウイルスベクターによる抗腫瘍効果の誘導

著者	Sita Laksmi Andarini
号	2317
発行年	2006
URL	http://hdl.handle.net/10097/22933

氏 名（本籍）	シタ ラクスマ アンダリニ Sita Laksmi Andarini
学 位 の 種 類	博 士（医 学）
学 位 記 番 号	医 博 第 2 3 1 7 号
学位授与年月日	平 成 18 年 3 月 24 日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当
研 究 科 専 攻	東北大学大学院医学系研究科 （博士課程）医科学専攻
学 位 論 文 題 目	Adenovirus vector-mediated in vivo gene transfer of OX40 ligand to tumor cells enhances anti tumor immunity of tumor-bearing hosts （OX40リガンド発現組換えアデノウイルスベクターによる抗腫瘍効果の誘導）
論文審査委員	（主 査） 教授 貫 和 敏 博 教授 佐々木 毅 教授 佐 竹 正 延

論文内容要旨

背景

OX40 リガンド (OX40L) は、活性化された抗原提示細胞上に発現している II 型膜分子で、OX40 を介して T 細胞を刺激し、T 細胞活性化反応を増強している。そこで私は、腫瘍内に OX40L を直接発現させれば、腫瘍特異的に T 細胞が活性化され、担癌宿主において抗腫瘍効果が誘導されるのではないかと考えた。

方法

この仮説を検証するために、OX40L を発現する組換えアデノウイルスベクター (AdOX40L) を作製し、これをマウスの皮下腫瘍に投与することにより、その抗腫瘍効果を検討した。

結果

AdOX40L を投与したいずれの腫瘍においても、コントロールに比し有意な腫瘍増殖の抑制が認められた。さらに、腫瘍内に AdOX40L を投与された担癌マウス体内では、その腫瘍特異的な細胞障害性 T 細胞 (CTL) の誘導が確認された。またノックアウトマウスを用いた実験により、AdOX40L による抗腫瘍効果には、CD4⁺T 細胞と CD8⁺T 細胞のいずれも重要であることがわかった。

結語

OX40L を腫瘍内に直接発現させることは腫瘍免疫の誘導に有用であることが示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

腫瘍形成に対する生体防御機構としての免疫系による排除は、免疫不全病態における腫瘍発生、免疫増強による治療応用等、生体における腫瘍免疫として重要な課題である。本学位申請者は、腫瘍抗原認識の第一段階である抗原提示細胞を取り上げ、本細胞に発現する OX 40 リガンド (OX 40 L) に着目した。OX 40 L は T 細胞に発現する OX 40 を介して T 細胞活性化反応を増強する。すなわち腫瘍局所において OX 40 L を過剰発現すれば、抗原認識と共に T 細胞を活性化し、その結果腫瘍を攻撃する抗腫瘍効果が誘導されるとの仮説の下に以下の実験を行った。

- ① OX 40 L 過剰発現のためアデノウイルスベクター (AdOX 40 L) を作成し、C57 Bl/6 にマウス黒色腫細胞株 B16 や、マウス肺癌細胞株 LLC、マウス大腸癌細胞株 Colon-26 による移植腫瘍を形成し、移植 7 日目に AdOX 40 L を注入したところ、対照 (AdNull) に比べ著明な腫瘍抑制効果を認めた。
- ② これらマウスの脾細胞を用い *in vitro* で抗腫瘍活性を検討したところ、腫瘍細胞特異抗腫瘍活性を確認した。AdOX 40 L 注入系では免疫組織染色でも腫瘍に免疫細胞の浸潤を認めた。
- ③ 本腫瘍免疫形成に関与する CD 4⁺、CD 8⁺ T リンパ球を各々欠損するマウスで検討すると、これらマウスでは腫瘍は対照同様増殖し、これら T 細胞の関与を示唆した。
- ④ 人工的抗原 (OVA) を用い AdOX 40 L による CD 4⁺ T リンパ球活性化を検討すると、本抗原刺激で細胞増殖、IFN- γ 、IL-4 など cytokine 産生を認め、AdOX 40 L による免疫機能増強を確認した。
- ⑤ さらに *ex vivo* で腫瘍細胞 (B16) に AdOX 40 L を感染し、放射線照射後、ワクチンのようにマウスに 2 度接種し、その 1 週間後、元細胞株 B16 を移植すると、腫瘍増殖は抑制され、その脾細胞を用い抗腫瘍活性を見たところ、腫瘍細胞特異攻撃性を認めた。

以上の実験結果は OX 40 L の高発現が抗原提示細胞や T 細胞を介して、抗腫瘍活性を増強する事実を示すものである。また臨床応用の面からは腫瘍内に直接、くり返し AdOX 40 L を注入しうることも、また切除組織由来の腫瘍細胞に対しても AdOX 40 L を感染させ、術後の抗腫瘍効果増強等、将来的な方法論に対して、非常に興味ある成績を得た。

よって、本論文は博士 (医学) の学位論文として合格と認める。